

# Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung

## Normalwerte in der deutschen Bevölkerung<sup>1)</sup>

Von

NEPOMUK ZÖLLNER

*Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. W. Seitz)*

(Der Schriftleitung zugegangen am 24. Juni 1963)

Es wird eine Methode zur enzymatischen Bestimmung der Harnsäure im Plasma oder Harn beschrieben, die auf einer Modifikation der Methode von PRAETORIUS und POULSEN beruht. Die Methode gibt sehr gute Übereinstimmungen zwischen Doppelbestimmungen bei erheblicher Einsparung von Arbeitszeit. — Die Normalwerte in einem Kollektiv von Blutspendern liegen im Mittelwert bei 4,05 mg% für Frauen und 4,86 mg% für Männer. Als klinisch zweckmäßige Normalbereiche werden für Frauen Werte von 2,0 bis 6,35 mg% und für Männer von 2,65 bis 6,80 mg% angesehen. Bei dem untersuchten Personenkreis zeigen die Harnsäurewerte im Plasma keine Abhängigkeit vom Alter. Lediglich bei Frauen nach der Menopause ergibt sich eine gewisse Abnahme der Harnsäurewerte, die jedoch statistisch nicht ausreichend zu sichern ist. Vom Körpergewicht ist der Harnsäurespiegel nicht abhängig. Personen mit ausgeprägtem Übergewicht wurden jedoch nicht in ausreichender Zahl untersucht.

An enzymic method, modified from that of PRAETORIUS and POULSEN, is described for the determination of uric acid in plasma or urine. There is good agreement between duplicates and considerable time economy. The average normal values in a group of blood donors are 4.05 mg.% for women and 4.86 mg.% for men. Suitable normal ranges are considered to be 2.0–6.35 mg.% for women and 2.65–6.80 mg.% for men. In this particular group there is no dependence of plasma uric acid level on age. In women there is a certain decrease in the uric acid level after menopause, but statistically it cannot be adequately confirmed. The uric acid level is independent of body weight. A sufficient number of markedly overweight individuals were not studied however.

Eine exakte quantitative Bestimmung der Harnsäure ist erst möglich, seitdem die alten Methoden, die meist auf der Reduktion von Phosphorwolframsäure oder Ferricyanid beruhen, durch *enzymatische Methoden* ersetzt wurden. Diese Methoden beruhen auf dem Abbau der Harnsäure durch Uricase zum Allantoin, das weder die für die Harnsäure typische Ultraviolettabsorption bei 293 m $\mu$  aufweist, noch die zum Nachweis der Harnsäure üblichen Reaktionen gibt. Versuche, Uricase zur Harnsäurebestimmung einzusetzen, reichen bis in das Jahr 1939 zurück (1), aber erst die Methode von KALCKAR und SHAFRAN (2) setzte sich durch. Ihre Weiterentwicklung durch PRAETORIUS und POULSEN (3) kann heute als *die* Standardmethode angesehen werden. Zweck der folgenden Ausführungen ist die Mitteilung einer einfacheren Modifikation dieser Methode, die ohne Einbuße an Genauigkeit den Zeitaufwand stark verringert und daher für die klinisch-chemische Routine gut geeignet ist. Der Autor und seine Mitarbeiter verwenden diese Methode seit 5 Jahren. — Für die enzymatische Harnsäurebestimmung liegen aus Mitteleuropa die Normalwerte von HAUGE und HARVALD (4) vor. Da diese Werte nicht mit nordamerikanischen Ergebnissen (5, 6) übereinstimmen, war eine Nachuntersuchung angezeigt. Deshalb wurden mit der neuen Methode 384 Blutspender untersucht. Die

Resultate erlauben Angaben über die Normalwerte in der Bevölkerung von München (bei der derzeitigen Ernährung) und damit näherungsweise auch Angaben über die Normalwerte in der deutschen Bevölkerung.

### Methodik

#### Prinzip

Durch die Einwirkung von Uricase wird Harnsäure in Allantoin umgewandelt. Gleichzeitig verschwindet die typische Absorptionsbande bei 293 m $\mu$  (Abb. 1). Dieser Extinktionsabfall beträgt bei Verwendung des angegebenen Glycinpuffers 0,0745 für eine Harnsäurekonzentration von 1  $\mu$ g/ml und eine Schichtdicke von 1 cm.

#### Lösungen

a) Glycinpuffer-Stammlösung: 0,66 m, pH = 9,3. 25,0 g kristallines Glycin werden in 200 ml destilliertem Wasser aufgelöst; nach Zugabe von 110 ml *n* NaOH wird auf 500 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Das pH ist an der Glaselektrode zu kontrollieren und eventuell unter tropfenweiser Zugabe von 5-*n* HCl bzw. NaOH einzustellen. Über Chloroform im Kühlschrank aufbewahrt ist die Lösung haltbar.

b) Glycinpuffer-Gebrauchslösung: Die Stammlösung wird mit bidestilliertem Wasser 1:10 verdünnt (Meßzylinder). Innerhalb einer Bestimmungsreihe ist ausschließlich die gleiche Gebrauchslösung zu verwenden. Pro Analyse werden etwa 28 ml Gebrauchslösung benötigt; dazu treten pro Bestimmungsreihe etwa 12 ml für die Messung der Eigenextinktion der Uricase.

<sup>1)</sup> Mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

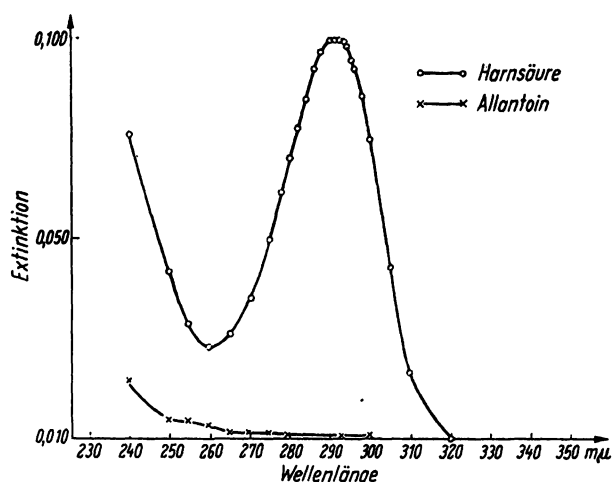


Abb. 1

Verschwinden des Harnsäurespektrums (pH = 9,3) unter der Einwirkung von Uricase.

**Ansätze:** Harnsäurespektrum: 4  $\mu$ g Harnsäure in 3 ml Puffer-Gebrauchslösung, frisch gelöst, Ablesung gegen Puffer-Gebrauchslösung als Nullwert. — **Reaktionsprodukt:** Zu 4  $\mu$ g Harnsäure in 2 ml Puffer-Gebrauchslösung wird 1 ml Uricase-Gebrauchslösung gegeben; nach 1 Std. wird gegen 1 ml Uricase-Gebrauchslösung, verdünnt mit 2 ml Puffer-Gebrauchslösung, abgelesen. Das Spektrum des Abbauproduktes entspricht dem des Allantoin. Photometer: Zeiss M 4 Q III; Schichtdicke: 1 cm. Der gemessene Extinktionskoeffizient  $[E_{293} (1 \mu\text{g/ml}, 1 \text{ cm}) = 0,075]$  entspricht dem der Literatur (0,0745).

c) Enzympräparat: Zunächst wurde die Uricase Leo verwendet (LEO Pharmaceutical Products, Kopenhagen); neuerdings heißt das gleiche Präparat Uricase Löwens (Løwens Kemiske Fabrik, Kopenhagen).

d) Uricase-Stammlösung: Der Inhalt einer Uricaseampulle wird in 0,25 ml der Puffer-Gebrauchslösung aufgelöst. Diese Lösung ist im Kühlschrank etwa 14 Tage haltbar.

e) Uricase-Gebrauchslösung: Vor der Durchführung der Bestimmung wird eine entsprechende Menge der Uricase-Stammlösung mit Puffer-Gebrauchslösung 1:100 verdünnt. Unter den von uns gewählten Bedingungen liegt die Eigenextinktion dieser Lösung zwischen 0,010 und 0,015.

### Durchführung

a) 1 ml Serum wird mit Puffer-Gebrauchslösung im Meßkölbchen auf 25 ml verdünnt. (Falls Untersuchungsgut knapp ist, können 0,4 ml Serum auf 10 ml verdünnt werden.) Beim Verdünnen ist zu beachten, daß Serum im alkalischen Milieu leicht schäumt. Es empfiehlt sich deshalb, zuerst nur durch vorsichtiges Schwenken zu mischen, dann zur Marke aufzufüllen und erst abschließend endgültig zu mischen. Da Harnsäure im alkalischen Milieu an der Luft oxydiert, muß von diesem Schritt an zügig weiter gearbeitet werden.

b) Für die Photometrie werden folgende *Ansätze* gemacht:

I. Zur Bestimmung der Eigenextinktion des Enzymes ( $E_F$ )  
 1.) 2 ml Puffer-Gebrauchslösung; 1 ml Uricase-Gebrauchslösung;  
 2.) 3 ml Puffer-Gebrauchslösung

II. Zur Bestimmung des Extinktionsabfalles im Serumsatz ( $E_{HS}$ )  
 3.) 2 ml verdünntes Serum; 1 ml Puffer-Gebrauchslösung;  
 4.) 2 ml verdünntes Serum; 1 ml Uricase-Gebrauchslösung.

Die Fermentzugabe (d. h. die Ansätze I, 1 und II, 4) erfolgt erst nach Fertigstellung der Ansätze I, 2 und II, 3, damit eine Ver-

unreinigung dieser Ansätze durch Fermentspuren vermieden wird. Alle Ansätze sind gut durchzuschütteln und bei Zimmertemperatur 20 Min. stehenzulassen.

c) Die *Photometrie* erfolgt am Spektralphotometer bei Wellenlänge 293 m $\mu$  mit Quarzküvetten von 10 mm Schichtdicke. Zur Bestimmung der Eigenextinktion des Fermentes wird I, 1 gegen I, 2 als Nullwert abgelesen. Bei den Serumansätzen dient II, 4 als Nullwert für die Ablesung von II, 3. Die Ablesung der Serumansätze wird in einer Stichprobe nach 5 Min. wiederholt um festzustellen, ob die Uricase-Reaktion abgeschlossen ist; die Extinktion darf sich in diesem Intervall nicht geändert haben. — (Die Küvette für Ansatz I, 1 wird für Ansatz II, 4, die Küvette für Ansatz I, 2 für Ansatz II, 3 verwendet, damit die Proben ohne Enzyme (II, 3) nicht mit Enzymresten aus I, 1 in Berührung kommen). — Obwohl Doppelbestimmungen immer sehr gute Übereinstimmung ergeben, ist es zweckmäßig, die Untersuchung als Doppelbestimmung durchzuführen.

### Berechnung

Abbildung 2 zeigt den Ablauf der Bestimmung. Es ergibt sich daraus, daß die photometrische Ablesung der Serumverdünnung vor Uricaseeinwirkung gegen die Serumverdünnung nach Uricaseeinwirkung ( $E_{HS}$ ) nicht berücksichtigt, daß nur einem der Ansätze Uricase zugesetzt wird. Der Extinktionsdifferenz dieser Ablesung ist deshalb die Eigenextinktion des Enzymes ( $E_F$ ) zuzuzählen; die Harnsäurekonzentration ist proportional ( $E_F + E_{HS}$ ).

Da der Extinktionskoeffizient für eine Lösung von 1  $\mu$ g/ml in der 1 cm-Küvette 0,0745 beträgt, ist die Konzentration im Versuchsansatz gleich

$$\frac{E_F + E_{HS}}{0,0745} = \mu\text{g/ml}.$$

Unter Berücksichtigung der Verdünnungen und Abrundung des Extinktionskoeffizienten berechnet sich daraus die Harnsäurekonzentration im Serum zu:

$$\frac{(E_F + E_{HS}) \times 3 \times 25 \times 100}{0,0745 \times 2 \times 1000} \text{ mg} = \frac{(E_F + E_{HS}) \times 100}{2} \text{ mg \%}$$

Durch die günstig gewählten Verdünnungen ist die Rechnung also sehr einfach.

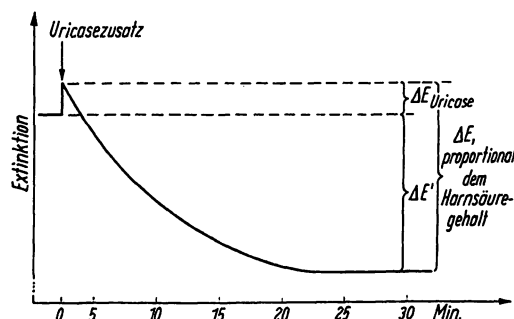


Abb. 2

Ablauf der Extinktion bei der Durchführung der differential-spektrophotometrischen Harnsäurebestimmung.

Die Eigenextinktion des harnsäurehaltigen Serums wird zunächst um die Extinktion der Uricase vergrößert ( $\Delta E_{Uricase}$ ), um dann proportional der Harnsäurekonzentration um  $\Delta E$  abzufallen. Von den bei der Durchführung unserer Modifikation der spektrophotometrischen Methode vorgenommenen Messungen entspricht  $E_F$  (Ablesung I)  $\Delta E_{Uricase}$ ;  $E_{HS}$  (Ablesung II) entspricht  $\Delta E'$ .

### Beispiel

In einem typischen Versuch beträgt der Extinktionsabfall im Serumansatz ( $E_{HS}$ ) 0,090, die Eigenextinktion des Enzymes ( $E_F$ ) 0,015. Der Harnsäurewert berechnet sich daraus zu

$$\frac{(0,015 + 0,090) \times 100}{2} = 5,25 \text{ mg \%}$$

Wird bei der Verdünnung des Ausgangsserum 1 ml einer frisch bereiteten 5 mg% Harnsäurelösung zugesetzt, ehe auf 25 ml mit Puffer-Gebrauchslösung aufgefüllt wird, so beträgt  $E_{HS}$  0,190; die Wiederfindung zugesetzter Harnsäure ist also quantitativ.

### Genauigkeit

Bei der Kleinheit der Extinktionswerte ist es, falls kein zuverlässiges Photometer zur Verfügung steht, zweckmäßig, in 2 cm-Küvetten zu arbeiten und in der Berechnung durch 4 zu dividieren. Außerdem muß den Tatsachen, daß der Fermentleerwert einen verhältnismäßig großen Anteil des Gesamtwertes ausmacht und daß gegen den Leerverbrauch direkt abgelesen wird, dadurch Rechnung getragen werden, daß sehr präzise mit geeichten Pipetten gearbeitet wird. Die Eigenextinktion der Ansätze ist ziemlich groß und geht bei ungenauem Arbeiten als Fehler in die Ergebnisse ein.

### Bestimmung im Harn

Je nach der Harnsäurekonzentration im Harn werden 0,1 bzw. 0,2 ml Harn auf 25 ml mit Puffer-Gebrauchslösung verdünnt. Im weiteren wird wie für Serum verfahren. Bei der Berechnung wird die stärkere Verdünnung entsprechend berücksichtigt. — Im Sammelharn ist ein Teil der Urate bereits ausgefallen. Zur quantitativen Bestimmung ist es deswegen notwendig, den Sammelharn kräftig zu rühren und einen aliquoten Teil nach vollständiger Suspension des Niederschlages zu entnehmen. Da Harnsäure im alkalischen Milieu bereits an der Luft oxydiert, ist darauf zu achten, daß der Harn während des Sammelns (über Chloroform) leicht sauer gehalten wird.

### Einfluß von Eiweiß auf die Ergebnisse

Der Extinktionskoeffizient der Harnsäure gilt zunächst für wäßrige Lösungen. Es war deshalb zu prüfen, ob die mit dem Serumansatz verbundene Verbreiterung des Photometerspaltes den Extinktionskoeffizienten beeinflußt. — Zu diesem Zweck wurden Ansätze aus Harnsäurelösungen und Rinderalbumin hergestellt, die einer Konzentration von 5 mg% Harnsäure in 8 g% Eiweiß entsprachen. Von diesem Ansatz ausgehend, wurden bei konstanter Harnsäurekonzentration die Eiweißkonzentrationen bis auf  $\frac{1}{5}$  des angegebenen verdünnt, außerdem wurde eine Harnsäurebestimmung in wäßriger Lösung durchgeführt. Obwohl die Spaltbreiten zwischen 0,375 (Versuch in wäßriger Lösung) und 0,64 (Versuch mit einer 8proz. Albuminlösung) variierten, lagen die extremsten Werte für  $E_{HS}$  (Mittelwerte aus Tripelversuchen) nur um 3,7% voneinander entfernt, die Differenz zwischen dem Ansatz ohne Albuminzusatz und dem Ansatz mit der höchsten Albuminkonzentration betrug 1,25%.

Die Ergebnisse dieser Versuche bedeuten, daß Unterschiede in der Eiweißkonzentration *keinen* Einfluß auf die Ergebnisse der Bestimmung haben.

### Normalwerte der Harnsäure

Der Bestimmung der normalen Harnsäurewerte in der deutschen Bevölkerung wurden die Ergebnisse bei 265 Männern und 119 Frauen zugrunde gelegt. Das Blut wurde vom Südbayerischen Blutspendedienst München bei der Abnahme von Blutspenden gewonnen

und noch am gleichen Tage verarbeitet<sup>1)</sup>. Eine besondere Untersuchung des Gesundheitszustandes der Blutspender erfolgte nicht. Abbildung 3 zeigt die Verteilung und den berechneten Mittelwert ( $\bar{x}$ ); die Standardabweichung ( $s$ ) betrug bei den Männern 1,32 mg%, bei den Frauen 1,29 mg%, die Standardabweichung der Mittelwerte ( $s/\sqrt{N}$ ) betrug bei beiden Geschlechtern 0,08 mg%. Legt man  $\bar{x} \pm 2s$  als Grenzen des Normalbereiches fest, so ergibt sich für Männer ein Normalbereich von 2,22 mg% bis 7,50 mg%, für Frauen ein Normalbereich von 1,47 mg% bis 6,63 mg%. — Um die Normalwerte auch anderweitig zu prüfen, wurden die Ergebnisse der Untersuchungen nach Perzentilen geordnet (Abb. 4). Grenzt man bei dieser

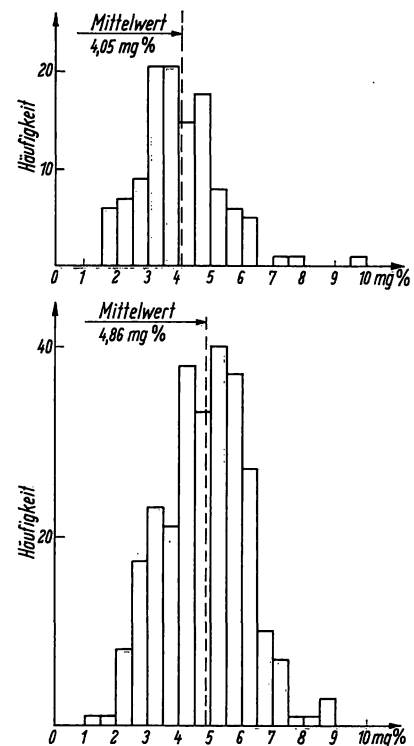


Abb. 3

Häufigkeit von Plasmaharnsäurewerten bei 119 Frauen und 265 Männern

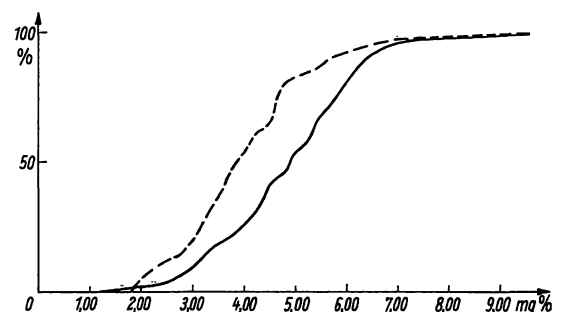


Abb. 4

Prozentuale Verteilung der Häufigkeit von Plasmaharnsäurewerten bei 119 Frauen und 265 Männern

<sup>1)</sup> Herrn Dr. Rasch, Leiter des Blutspendedienstes, sind wir für seine Hilfe zu Dank verpflichtet.

Darstellung den Normalbereich von 2,5% bis 97,5% ab, so ergibt sich für Männer ein Normalbereich von 2,3 mg% bis 7,3 mg%, für Frauen von 1,85 mg% bis 7,0 mg%. Schließt man die extremen 5% aus den Normalbereichen aus, so liegt der Normalbereich für Männer zwischen 2,65 mg% und 6,80 mg%, für Frauen zwischen 2,0 mg% und 6,35 mg%. Dieser Normalbereich ist für die Klinik wahrscheinlich am zweckmäßigsten. — Die von uns gewonnenen Normalwerte stimmen gut mit den Ergebnissen von HAUGE und HARVALD (4) überein, die als Mittelwert für Männer 5,1 mg%, für Frauen 4,0 mg% angeben. Andererseits fanden nordamerikanische Autoren bei Männern 4,1 mg% bis 6,6 mg%, Mittelwert 5,6 mg% (5) bzw. 4,5 mg% bis 8,3 mg%, Mittelwert 6,0 mg% (6); bei Frauen 3,4 mg% bis 6,1 mg%, Mittelwert 4,5 mg% (5) bzw. 3,4 mg% bis 6,0 mg%, Mittelwert 4,7 mg% (6). Die untersuchten Kollektive sind allerdings nur sehr klein.

Die weite Streuung der Harnsäurewerte ist bemerkenswert. Sie hängt vermutlich damit zusammen, daß der Harnsäurespiegel keine durch Stoffwechsel oder Ausscheidung geregelte Größe darstellt, sondern sich durch das Zusammenspiel von endogener Purinsynthese, exogener Purin- und Eiweißzufuhr, renaler Ausscheidung und Größe des Purinumsatzes ergibt. Bemerkenswert ist die obere Grenze der Norm, die mit der klinischen Erfahrung, daß bei zuverlässiger Bestimmung Gicht nur bei Harnsäurewerten oberhalb von 6,5 mg% auftritt, gut übereinstimmt. Immerhin gibt es offensichtlich eine Reihe von Personen (8% der Männer und 4% der Frauen), deren Werte eindeutig oberhalb des Wertes von 6,5 mg% liegen, ohne daß eine Gicht in der Anamnese feststellbar ist. Ob solche Personen symptomlose Träger einer familiären Hyperuricämie sind oder ob die hohen Werte zufällig auftreten, wurde nicht näher untersucht. Auch einige Fälle von renal bedingter Erhöhung der Plasmaharnsäure sind bei dem gewählten Vorgehen bei der Gewinnung des Untersuchungsgutes nicht mit Sicherheit auszuschließen.

Nachdem in der Literatur (7) keine Einigkeit darüber besteht, ob die Harnsäurewerte von Normalpersonen vom Alter abhängen, wurde diese Frage gesondert geprüft. Abbildung 5 stellt die Ergebnisse bei den einzelnen Altersgruppen dar. Sie zeigt, daß keine signifikante Änderung des Plasmaharnsäurewertes mit dem Alter auftritt. — Zum gleichen Ergebnis kommt man, wenn man die Ergebnisse bei den 100 jüngsten den Ergebnissen bei den 100 ältesten Männern gegenüberstellt. Der Mittelwert bei den 100 jüngsten Männern beträgt 4,93 mg%, bei den 100 ältesten Männern 4,74 mg%. Die entsprechenden Standardabweichungen betragen 1,36 mg% bzw. 1,34 mg%. — Die Harnsäurewerte von 79 Frauen vor der Menopause (22 bis 40 Jahren) betragen im Mittel 4,11 mg% (Standardabweichung 1,3 mg%, Standardabweichung des Mittelwertes 0,16 mg%); bei 25 Frauen nach der Menopause (45 bis 59 Jahren) beträgt der Mittelwert 3,58 mg% (Standardabweichung 1,23 mg%, Standardabweichung

des Mittelwertes 0,24 mg%). Bei den Frauen nach der Menopause finden wir also einen niedrigeren Harnsäurespiegel als vorher, der Unterschied ist jedoch statistisch nicht ausreichend zu sichern. Die Ergebnisse zeigen aber jedenfalls, daß durch die hormonale Umstellung der Menopause die Harnsäurewerte bei der Frau nicht zunehmen, daß also der Geschlechtsunterschied mit großer Wahrscheinlichkeit nicht auf hormonale Unterschiede zurückzuführen ist. — Als ebenfalls fraglich galt in der Literatur (7) die Beziehung

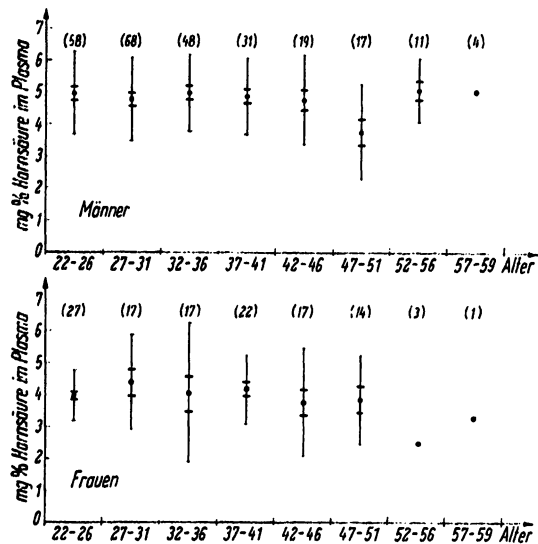


Abb. 5

Plasmaharnsäurespiegel bei Personen verschiedenen Alters

Die Punkte geben jeweils den Mittelwert ( $\bar{x}$ ) an, die dicken Striche die Standardabweichung des Mittelwertes ( $\bar{x} \pm s/\sqrt{N}$ ), die dünnen Striche die Standardabweichung ( $\bar{x} \pm s$ ). Die Zahl der den Berechnungen zugrunde liegenden Fälle steht jeweils über den Punkten.

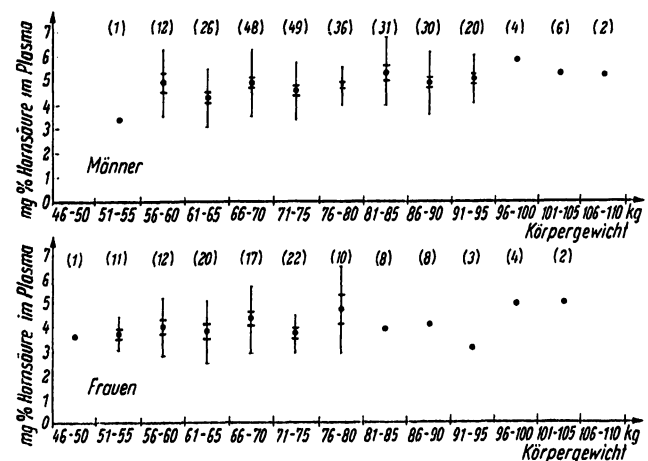


Abb. 6

Plasmaharnsäurespiegel bei Personen verschiedenen Gewichtes

Die Punkte geben jeweils den Mittelwert ( $\bar{x}$ ) an, die dicken Striche die Standardabweichung des Mittelwertes ( $\bar{x} \pm s/\sqrt{N}$ ), die dünnen Striche die Standardabweichung ( $\bar{x} \pm s$ ). Die Zahl der den Berechnungen zugrunde liegenden Fälle steht jeweils über den Punkten.

zwischen Harnsäurespiegel und *Körpergewicht*. Abbildung 6 zeigt, daß der Harnsäurespiegel mit dem Körpergewicht nicht zunimmt. Bemerkenswert sind vielleicht die etwas höheren Werte bei ausgeprägtem Über-

gewicht. Wegen der geringen Zahl der Fälle ist nicht zu entscheiden, ob es sich hier um Zufallsbefunde oder die Folge der mit Fettsucht zwangsläufig verbundenen Vielesserei handelt.

### Literatur

1. BLAUCH, M. B. und F. C. KOCH, J. biol. Chemistry 130, 443 (1939). — 2. KALCKAR, H. M. und J. SHAFRAN, J. biol. Chemistry 167, 429 (1947). — 3. PRAETORIUS, E. und H. POULSEN, Scand. J. Clin. Laborat. Invest. 5, 273 (1953). — 4. HAUGE, M. und B. HARVALD, Acta med. Scand. 152, 247 (1955). — 5. SMYTH, C. J., Meta-

bolism, Baltimore 6, 218 (1957). — 6. SANDBERG, A. A., G. E. CARTWRIGHT und M. M. WINTROBE, Blood 11, 154 (1956). — 7. ZÖLLNER, N., Moderne Gichtprobleme Ätiologie, Pathogenese, Klinik. In: Erg. inn. Med. Kinderhk., 14. Band. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1960).

Professor Dr. med. Nepomuk Zöllner  
Medizinische Poliklinik der Universität  
8 München 15, Pettenkoferstr. 8a

## Serum-Kupfer-Analysen mit Hilfe der Absorptions-Flammenphotometrie<sup>1)</sup>

Von

ROLAND HERRMANN und WALTER LANG

Aus dem Laboratorium für Medizinische Physik an der Universitäts-Hautklinik Gießen (Leiter: Prof. Dr. R. Herrmann)

Herrn Professor Dr. FR. KRÖHNKE, Chemisches Institut, Gießen, zum 60. Geburtstag gewidmet.

(Der Schriftleitung zugegangen am 12. April 1963)

Zur Bestimmung des Kupfers im Serum wird eine Atomabsorptionsmethode mit vorangehender Extraktion beschrieben. Diese Atomabsorptionsmethode bietet infolge ihrer Spezifität eine Reihe von Vorteilen gegenüber den bisher meist angewandten spektrophotometrischen (Molekül-) Absorptionsmethoden.

A method is described for the determination of copper in serum by extraction, followed quantisation by atomic absorption. Owing to its specificity, the atomic absorption method has many advantages over the hitherto mostly used spectrophotometric (molecular) absorption methods.

In vorangegangenen Veröffentlichungen (1, 2, 3, 4) haben wir über die Bestimmung der Elemente Na, K, Mg und Zn in Seren mit Hilfe der relativ neuen Absorptionsflammenphotometrie berichtet. Im folgenden wird eine Methode zur Bestimmung des Spurenelementes Cu in Seren mit der gleichen Methode angegeben. Die Bestimmung dieses Elementes ist aus folgenden Gründen schwieriger als die der vorangegangenen Elemente:

1. Die Absorptionsfähigkeit der Cu-Atome ist infolge ihrer geringeren Oscillatorenstärke ( $f_{324.8} = 0,62$ ) kleiner als die der Elemente Ca ( $f_{422.7} = 2,27$ ), Mg ( $f_{285.2} = 1,75$ ), Na ( $f_{589.0} = 0,67$ ), K ( $f_{766.5} = 0,70$ ).
2. Kupfer kommt im Serum in geringerer Konzentration vor als

die vorangegangenen Elemente, (Cu = 1 mg/l, Na = 3300 mg/l, K = 160 mg/l, Ca = 100 mg/l).

3. Es entzieht sich ein Teil der Cu-Atome dem atomaren Nachweis durch die Bildung von Molekülen wie CuOH in der Flamme (5, 6).

Man muß daher für den atomaren Nachweis einen größeren apparativen Aufwand treiben.

### Meßanordnung:

Wir verwenden das *Spektralphotometer* PMQ II von Carl Zeiss (Oberkochen), bei dem zur Erhöhung der Empfindlichkeit, wie es bei (Emissions-) flammenphotometrischen Messungen auch üblich ist, der Gegenkopplungswiderstand im Anzeigegerät von 200 kOhm auf 1 MOhm erhöht wurde. Vor dem Eingangsspalz des Monochromators haben wir die aus Abbildung 1 ersichtliche, in eigener Werkstatt erstellte Spiegelanordnung nach WHITE (7) angebracht, die einen 5-fachen Durchgang des Meßstrahls durch

<sup>1)</sup> Unterstützt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft.